

饲料中添加芽孢杆菌对草鱼表观消化率及消化酶活性的影响

曲艺 吴志新 杨丽 彭小云 袁娟 毕鹏 刘红 陈孝煊

华中农业大学水产学院, 武汉 430070

摘要 在草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)饲料中分别添加 0(I组)、 1×10^8 (II组)、 3×10^8 (III组)、 5×10^8 cfu/g(IV组)芽孢杆菌(*Bacillus* spp.)持续投喂草鱼,收集粪便测定草鱼对各营养物质的表观消化率和消化酶活性。结果表明:投喂 30 d后,II、III组干物质、粗蛋白、粗脂肪表观消化率和IV组粗蛋白、粗脂肪表观消化率均显著高于I组(对照组),其中II组的表观消化率最高,且芽孢杆菌添加量与营养物质表观消化率最符合一元二次曲线方程。II组中肠和II、III组肝胰脏蛋白酶活性均显著提高;II组的前肠和后肠淀粉酶活性显著高于对照组;II、III组后肠脂肪酶活性均显著高于对照组。投喂 60 d后,消化酶活性也有相似的结果。双因子方差分析表明:芽孢杆菌的添加量对中肠、后肠和肝胰脏蛋白酶活性,前肠、中肠和后肠淀粉酶活性,中肠和后肠脂肪酶活性均有显著影响;投喂时间对肝胰脏蛋白酶、淀粉酶活性有显著影响。

关键词 草鱼;芽孢杆菌;表观消化率;蛋白酶活性;淀粉酶活性;脂肪酶活性

中图分类号 S 963.73⁺9; Q 959.46⁺8 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2012)01-0106-06

芽孢杆菌为革兰氏阳性菌,可分泌多种胞外酶和抗菌化合物^[1-3],已被广泛使用于水产养殖。通常认为,芽孢杆菌可增强动物对营养物质的消化吸收、产生抑制性化合物竞争排斥致病菌、改善水质、增强动物的免疫反应^[4]。研究表明,芽孢杆菌能显著促进凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)、异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)的生长和提高饲料干物质、粗蛋白和磷的表观消化率,也可提高奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus* ♀ × *O. aureus* ♂)、异育银鲫肝胰脏及肠道消化酶活性^[5-7]。本文分析了日粮中添加芽孢杆菌后对草鱼饲料干物质、粗蛋白、粗脂肪、粗灰分表观消化率的影响和草鱼肠道及肝胰脏消化酶活性的变化,以探讨芽孢杆菌的促消化机制,并为芽孢杆菌在草鱼饲料中的合理利用提供一定的科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验鱼

试验用草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)购自华中农业大学水产基地。选择健康、规格基本一致

的草鱼 360 尾,随机分成 4 组,其中 I 组为对照组,II、III、IV 组为试验组,每组设 3 个平行试验。共 12 个水族箱(60 cm × Φ80 cm),每个水族箱放养 30 尾草鱼,个体初始质量(34.26 ± 1.02) g。

1.2 试验菌种

芽孢杆菌(*Bacillus* spp.)分离自草鱼肠道,由笔者所在实验室分离保存,经液体发酵收集后用于本试验。

1.3 试验日粮

将各饲料原料粉碎,经过充分均匀混合后,用制粒机挤压成直径为 1.5 mm 的颗粒饲料,40 °C 烘干即为基础日粮(I 组)。通过喷涂菌悬液的方式,使饲料中分别含芽孢杆菌 1×10^8 (II 组)、 3×10^8 (III 组)、 5×10^8 cfu/g(IV 组)。基础日粮配方及营养水平见表 1。配方中“维生素预混剂”中各物质的含量为:维生素 A 3 500 000 IU、维生素 D₃ 500 000 IU、维生素 B₁ 5 000 mg、维生素 B₂ 10 000 mg、维生素 B₆ 5 000 mg、维生素 B₁₂ 25 mg、维生素 C 50 000 mg、维生素 E 35 000 mg、维生素 H 300 mg、维生素 K₃ 4 000 mg、尼克酸 50 000 mg、叶酸 2 000 mg、泛

收稿日期: 2011-04-28

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2007BAD37B02)、湖北省“十一五”科技攻关项目(2006AA203A02、2007AA203A01)

曲艺,硕士研究生,研究方向:水产动物营养与免疫。E-mail: quyis607@163.com

通讯作者: 吴志新,副教授,研究方向:鱼类营养与免疫。E-mail: wuzhixin@mail.hzau.edu.cn

酸 20 000 mg、肌醇 150 000 mg, 水 $\leq 10\%$, 载体为米糠;“无机盐预混剂”中各物质的含量为(g/kg): 镁 22.0, 铜 1.0, 锰 5.0, 碘 0.06, 铁 32.0, 钴 0.06, 锌 8.0, 硒 0.02, 水 $\leq 10\%$, 载体为沸石粉。

表 1 基础日粮组成及营养水平

Table 1 Composition and nutrient contents of the basic diet

成分 Ingredients	含量/% Content	营养物质 Nutrition	含量/% Content
豆粕 Soybean meal	10.0	粗蛋白 Crude protein	31.73
鱼粉 Fish meal	18.0	粗脂肪 Crude lipid	5.30
α -淀粉 α -starch	10.0	粗灰分 Crude ash	6.91
小麦粉 Wheat flour	22.0	水分 Moisture	9.38
菜粕 Rapeseed meal	34.0		
维生素预混剂 Vitamin premix	1.0		
无机盐预混剂 Mineral premix	1.0		
玉米油 Corn oil	2.5		
氯化胆碱 Choline choride	1.0		
三氧化二铬 Cr ₂ O ₃	0.5		

1.4 饲养管理

试验在室内配备有微流水和充氧设备的养殖系统中进行。按鱼体质量的 3%~5% 于每日 09:00、16:00 两次定点投喂, 随鱼体的生长调整投喂量, 投喂后 1 h 吸除残饵。试验期间溶氧水平 6~8 mg/L, 水温 25~28 °C, 试验周期为 60 d。

1.5 表观消化率测定

投喂试验日粮 30 d 后, 开始在每天投喂 2 h 后收集粪便, 收集时用捞网捞起条状粪便, 用镊子选择新鲜、外表带有包膜、尽可能完整的粪便放入干净培养皿中, 60 °C 烘干, 4 °C 保存, 待测干物质、粗蛋白、粗脂肪和粗灰分表观消化率。其中, 水分采用直接干燥法、蛋白质采用凯氏定氮法、粗脂肪采用索氏抽提法测定, 粗灰分采用马福炉灼烧法测定, Cr₂O₃ 含量采用原子吸收分光光度计(TAS-986)火焰分析法测定。

某营养物质的表观消化率 = $[1 - (F_c/S_c) \times (S_n/F_n)] \times 100\%$;

干物质表观消化率 = $[1 - (F_c/S_c)] \times 100\%$

F_c : 饲料中 Cr₂O₃ 的含量; S_c : 粪便中 Cr₂O₃ 的含量; F_n : 饲料中营养成分的含量; S_n : 粪便中营养成分的含量。

1.6 消化酶活性测定

1) 采集样品。分别于试验开始后第 30 天和第 60 天取样, 取样于投喂 6 h 后进行, 每个水族箱中各取 3 尾草鱼, 于冰盘上解剖, 快速分离前、中、后肠和肝胰脏, 剔除脂肪组织, 4 °C 去离子水冲洗, 滤纸吸干水分, -20 °C 保存, 用于测定消化酶活性。

2) 制备酶液。将肠道及肝胰脏按 m/V 为 1:10 的比例加入 4 °C 三蒸水冰浴匀浆, 在 4 °C 冰箱中放置匀浆液 2 h 后, 4 °C、11 000 r/min 离心 30 min, 取上清液进行消化酶活性测定, 24 h 内测定完毕。

3) 测定方法。蛋白酶活性采用福林酚试剂法, 蛋白酶活性单位(U)定义: 1 g 新鲜组织样品在 pH 7.5 和 37 °C 条件下, 1 min 水解酪蛋白所产生的酪氨酸量 [$\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{min})$]。淀粉酶活性采用淀粉酶试剂盒(购于南京建成生物工程研究所)测定, 淀粉酶活性单位(U)定义: 1 g 新鲜组织样品在 pH 7.5 和 37 °C 条件下, 1 min 水解淀粉的量 [$\text{mg}/(\text{g} \cdot \text{min})$]。脂肪酶活性用聚乙烯醇橄榄油乳化液水解法, 脂肪酶活性单位(U)定义: 1 g 新鲜组织样品在 pH 7.5 和 40 °C 条件下, 1 min 水解脂肪所产生的脂肪酸量 [$\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{min})$]。

1.7 数据统计与分析

试验数据均用平均值 \pm 标准误(mean \pm SE)表示, 采用 SPSS16.0 统计软件对表观消化率和消化酶活性数据作单因素方差分析(one-way-ANOVA), 若组间差异显著, 则做 Duncan's 多重比较, 显著水平 P 采用 0.05。对芽孢杆菌添加量和投喂时间的交互作用作双因素方差分析(two-way-ANOVA), 对芽孢杆菌的添加量和表观消化率的各项指标进行回归分析。

2 结果与分析

2.1 芽孢杆菌对草鱼营养物质表观消化率的影响

芽孢杆菌可以明显提高草鱼对干物质、粗蛋白、粗脂肪、粗灰分的表观消化率。与对照组比较, II 组和 III 组干物质、粗蛋白、粗脂肪表观消化率均达显著差异($P < 0.05$), 分别提高了 19.44% 和 12.01%、7.06% 和 3.33%、12.18% 和 8.6%, 粗灰分表观消化率仅 II 组达显著差异($P < 0.05$), 提高了 12.91%。IV 组粗蛋白、粗脂肪表观消化率均显著高于对照组($P < 0.05$), 分别提高了 2.78% 和 6.43%; 干物质和粗灰分表观消化率比对照组有所升高, 但差异不显著。通过拟合, 芽孢杆菌添加量与表观消

化率之间最符合一元二次曲线方程,详见表 2。

2.2 芽孢杆菌对草鱼蛋白酶活性的影响

草鱼投喂芽孢杆菌 30 d 后,Ⅳ组后肠蛋白酶活性与对照组相比显著降低;Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ组中肠和肝胰脏蛋白酶活性均显著升高,Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ组组间均无显

著差异。投喂 60 d 后,Ⅱ组中肠和Ⅱ、Ⅲ组肝胰脏蛋白酶活性与对照组相比均显著升高,且Ⅱ组中肠和肝胰脏蛋白酶活性最高,Ⅳ组肝胰脏蛋白酶活性与Ⅱ、Ⅲ组相比显著降低;肝胰脏蛋白酶活性与第 30 天相比则显著降低。详见表 3。

表 2 不同芽孢杆菌添加水平下草鱼的表现消化率¹⁾

Table 2 Effect of *Bacillus* spp. on the apparent digestibility coefficients of grass carp

项目 Items	干物质 Dry matter	粗蛋白 Crude protein	粗脂肪 Crude lipid	粗灰分 Crude ash
组 I Group I	68.25±1.82 c	84.61±0.04 d	79.96±1.25 c	74.13±0.96 b
组 II Group II	81.52±1.07 a	90.58±0.02 a	89.70±1.18 a	83.70±0.35 a
组 III Group III	76.45±1.39 b	87.43±0.05 b	86.84±0.56 ab	75.75±0.36 b
组 IV Group IV	69.83±0.89 c	86.96±0.09 c	85.10±1.98 b	75.59±0.71 b
最佳拟合曲线方程 The best goodness of fit curve equation	$y=70.694+$ $7.883x-1.648x^2$	$y=84.607+$ $8.485x-2.515x^2$	$y=81.544+$ $6.57x-1.382x^2$	$y=74.133+$ $14.086x-4.516x^2$
相关指数 R^2 Related index R^2	0.595	0.999	0.626	0.957
P 值 P value	0.017	0.000	0.032	0.000

1)同一列数据标注不同字母表示差异显著($P<0.05$)。下同。The same column data with different letters are significantly different ($P<0.05$). The same as below.

表 3 投喂芽孢杆菌后草鱼蛋白酶活性的变化¹⁾

Table 3 Change on protease activity of grass carp after ingestion of *Bacillus* spp.

项目 Items	前肠 Fore-gut	中肠 Mid-gut	后肠 Hind-gut	肝胰脏 Hepatopancreas
Ⅰ 30	423.16±39.92 a	265.18±8.76 c	452.51±11.89 ab	143.40±1.99 d
Ⅱ 30	417.52±21.03 a	308.36±7.47 a	475.19±6.60 a	183.21±3.42 ab
Ⅲ 30	429.06±14.26 a	314.16±2.85 a	454.55±11.85 ab	187.73±2.51 a
Ⅳ 30	421.92±11.09 a	306.07±5.31 ab	417.78±6.82 c	183.14±2.61 ab
Ⅰ 60	442.76±37.69 a	290.08±1.96 b	416.57±3.28 c	142.74±4.59 d
Ⅱ 60	448.43±30.22 a	319.71±3.65 a	442.70±8.39 abc	173.27±4.37 bc
Ⅲ 60	436.45±33.17 a	303.46±2.59 ab	433.97±14.67 bc	171.42±1.49 c
Ⅳ 60	457.29±7.39 a	302.82±6.04 ab	436.01±13.38 bc	149.11±3.07 d

双因子分析(P 值)

Two-way analysis(P value)

芽孢杆菌添加量 Dosages of <i>Bacillus</i> spp.	0.992	0.000	0.037	0.000
投喂时间 Feeding time	0.240	0.160	0.211	0.000
芽孢杆菌添加量×投喂时间 Dosages of <i>Bacillus</i> spp.×feeding time	0.955	0.020	0.067	0.001

1)Ⅰ:对照组;Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ:芽孢杆菌添加量分别为 1×10^8 、 3×10^8 、 5×10^8 cfu/g 的试验组,30、60 为投喂时间(d)。下表同。Ⅰ:Control;Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ:Treatments supplemented with 1×10^8 、 3×10^8 、 5×10^8 cfu/g *Bacillus* spp. respectively. 30,60 were feeding time (d). The same as following tables.

双因子分析结果表明,芽孢杆菌添加量对草鱼中肠、后肠和肝胰脏蛋白酶活性均有显著影响,投喂时间仅对肝胰脏蛋白酶活性有显著影响。两者的交互作用对中肠和肝胰脏蛋白酶活性均有显著影响。

2.3 芽孢杆菌对草鱼淀粉酶活性的影响

草鱼投喂芽孢杆菌 30 d 后,Ⅱ、Ⅲ组前肠和Ⅱ组中肠及后肠的淀粉酶活性与对照组相比显著升高,Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ组组间均无显著差异。投喂芽孢杆菌

60 d 后,Ⅱ组前肠和后肠的淀粉酶活性显著高于对照组,且Ⅱ组前肠、后肠淀粉酶活性均为最高,Ⅳ组前肠、后肠淀粉酶活性与Ⅱ组相比显著降低;Ⅱ、Ⅳ组第 60 天肝胰脏淀粉酶活性与第 30 天相比显著降低。详见表 4。

芽孢杆菌添加量对草鱼前肠、中肠和后肠淀粉酶活性均有显著影响,投喂时间仅对肝胰脏淀粉酶活性有显著影响。两者的交互作用对草鱼前肠、中

肠、后肠和肝胰脏淀粉酶活性均无显著影响。

2.4 芽孢杆菌对草鱼脂肪酶活性的影响

草鱼投喂芽孢杆菌 30 d 后,后肠脂肪酶活性与对照组相比显著升高,其中 II 组的脂肪酶活性最高,III、IV 组显著低于 II 组,III、IV 组组间无差异

($P>0.05$)。投喂 60 d 后,III 组中肠和 II、III 组后肠脂肪酶活性显著高于对照组,其中 III 组中肠和 II 组后肠脂肪酶活性最高,IV 组后肠脂肪酶活性与 II 组相比显著降低。各组前肠、中肠、后肠和肝胰脏第 30 天与第 60 天脂肪酶活性均无显著性差异。详见表 5。

表 4 投喂芽孢杆菌后草鱼淀粉酶活性的变化

Table 4 Change on amylase activity of grass carp after ingestion of *Bacillus* spp.

mg/(g·min)

项目 Items	前肠 Fore-gut	中肠 Mid-gut	后肠 Hind-gut	肝胰脏 Hepatopancreas
I 30	144.86±1.38 c	304.26±3.74 b	454.26±1.92 b	458.51±2.66 abc
II 30	149.29±0.99 a	317.02±2.46 a	468.62±2.32 a	467.02±1.92 a
III 30	148.76±1.24 ab	312.06±0.71 ab	461.17±1.84 ab	453.19±4.02 bcd
IV 30	147.34±0.31 abc	312.41±0.35 ab	458.51±7.39 ab	463.83±5.32 ab
I 60	143.79±1.16 c	304.96±4.53 b	452.13±1.06 b	441.49±2.13 d
II 60	148.76±0.47 ab	312.41±0.94 ab	469.68±1.41 a	448.40±4.22 cd
III 60	145.04±1.24 bc	312.41±1.42 ab	462.77±2.44 ab	448.40±0.00 cd
IV 60	144.33±1.75 c	309.22±2.33 ab	453.19±4.02 b	451.60±5.60 cd
双因子分析(P 值)				
Two-way analysis(P value)				
芽孢杆菌添加量 Dosages of <i>Bacillus</i> spp.	0.007	0.006	0.001	0.085
投喂时间 Feeding time	0.201	0.352	0.625	0.000
芽孢杆菌添加量×投喂时间 Dosages of <i>Bacillus</i> spp.×feeding time	0.475	0.650	0.724	0.275

表 5 投喂芽孢杆菌后草鱼脂肪酶活性的变化

Table 5 Change on lipase activity of grass carp after ingestion of *Bacillus* spp.

μg/(g·min)

项目 Items	前肠 Fore-gut	中肠 Mid-gut	后肠 Hind-gut	肝胰脏 Hepatopancreas
I 30	235.42±3.92 a	326.97±7.28 ab	204.03±2.27 d	299.50±13.84 ab
II 30	252.42±4.72 a	345.28±5.99 a	270.73±14.15 a	299.50±6.92 ab
III 30	247.19±7.85 a	343.97±9.16 a	238.03±4.72 bc	312.58±3.46 ab
IV 30	240.65±2.62 a	334.81±5.70 a	241.96±10.21 bc	300.81±6.92 ab
I 60	238.03±5.70 a	309.97±4.53 b	210.57±7.96 d	303.43±5.70 ab
II 60	251.11±3.92 a	326.97±3.46 ab	257.65±3.46 ab	320.43±2.62 a
III 60	241.96±5.70 a	337.43±8.17 a	240.65±7.28 bc	303.43±6.54 ab
IV 60	239.34±9.87 a	326.97±1.31 ab	218.41±6.92 cd	282.50±16.34 b
双因子分析(P 值)				
Two-way analysis(P value)				
芽孢杆菌添加量 Dosages of <i>Bacillus</i> spp.	0.107	0.014	0.000	0.211
投喂时间 Feeding time	0.760	0.053	0.241	0.919
芽孢杆菌添加量×投喂时间 Dosages of <i>Bacillus</i> spp.×feeding time	0.932	0.698	0.243	0.189

芽孢杆菌添加量对中肠和后肠脂肪酶活性均有显著影响,投喂时间及两者的交互作用对前肠、中肠、后肠和肝胰脏脂肪酶活性均无显著影响。

3 讨论

3.1 芽孢杆菌对草鱼营养物质表观消化率的影响

刘波等^[5]在异育银鲫饲料中添加 200 和 300 mg/kg 地衣芽孢杆菌(*B. licheniformis*),干物质、

粗蛋白表观消化率较对照组分别提高了 6.72% 和 7.08%、5.61% 和 4.42%。付天玺等^[6]研究结果表明,饲料中添加 1.0×10^{11} cfu/kg 的凝结芽孢杆菌(*B. coagulans*)能显著促进奥尼罗非鱼的生长和饲料营养物质的利用。Lin 等^[7]在凡纳滨对虾日粮中添加 $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$ cfu/g 芽孢杆菌,显著提高了干物质、粗蛋白、磷、氨基酸及脂肪酸的表观消化率。高欣等^[8]在配合饲料中添加不同水平的芽孢杆菌粉

制剂投喂西伯利亚鲟 (*Acipenser baerii*), 0.2% 添加组的干物质、粗蛋白、粗脂肪、碳水化合物、粗灰分、能量的表观消化率均达最大值。本试验草鱼日粮中添加不同浓度的芽孢杆菌, 添加量为 1×10^8 cfu/g 试验组的表观消化率最高。添加芽孢杆菌可以提高饲料的消化吸收率, 一方面是该菌种在消化道内定殖、生长、繁殖, 直接产生维生素、氨基酸、短链脂肪酸等多种营养物质, 还能产生较强的蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶和动物体本身不具有的植酸酶、果胶酶等^[9-10], 从而促进机体消化系统对营养成分的消化和吸收, 提高消化效率; 另一方面与促进动物肠道的生长发育, 增加小肠蠕动的速度, 提高肠壁厚度、肠粘膜高度以及肠绒毛密度有关^[11-12]。

3.2 芽孢杆菌对草鱼消化酶活性的影响

有报道表明, 芽孢杆菌可以提高水产动物消化酶活性, Yu 等^[13]在凡纳滨对虾日粮中添加 0.3% 芽孢杆菌, 在试验第 42 天和第 56 天时可显著提高虾的肝胰脏淀粉酶比活力。华雪铭等^[14]报道, 日粮中添加 0.1% 益生菌(由枯草杆菌 *B. subtilis*、地衣芽孢杆菌和嗜热球状芽孢杆菌 *B. thermosphaericus* 混合而成)使暗纹东方鲀 (*Fugu obscurus*) 幼鱼肠道淀粉酶活性显著增强。Liu 等^[15]在凡纳滨对虾日粮中添加 10^8 cfu/kg 枯草芽孢杆菌 E20, 投喂 7 d 肠道蛋白酶活性提高 232.77%。本试验结果表明, 芽孢杆菌对草鱼同一种消化酶活性影响在前、中、后肠和肝胰脏不同, 对草鱼消化系统同一组织不同种类消化酶活性影响也不同。与对照相比, 日粮中添加一定量的芽孢杆菌, 草鱼前肠淀粉酶活性、中肠 3 种消化酶活性、后肠淀粉酶和脂肪酶及肝胰脏蛋白酶活性均显著提高, 说明日粮中添加芽孢杆菌后对草鱼中肠和肝胰脏蛋白酶活性, 前肠、中肠和后肠淀粉酶活性, 中肠和后肠脂肪酶活性有显著影响。

试验结果显示, 添加 $1 \times 10^8 \sim 3 \times 10^8$ cfu/g 芽孢杆菌草鱼肠道和肝胰脏消化酶活性可达最高, 而添加 5×10^8 cfu/g 芽孢杆菌草鱼肠道和肝胰脏消化酶活性则低于前者, 但仍高于对照组。刘小刚等^[16]在异育银鲫的基础饲料中分别添加 0.1%、0.2%、0.4% 芽孢杆菌, 投喂 60 d 后, 各组肠道、肝胰脏蛋白酶活性和肠道、肝胰脏淀粉酶活性变化趋势与本试验结果类似。消化酶活性随芽孢杆菌添加量的增加上升到一定程度时, 便维持在一定水平, 这可解释为草鱼长期采食所添加的芽孢杆菌可引起肠道和肝胰脏的适应性分泌。继续增大添加量, 酶活性反而

下降。推测其原因是由于添加过多的芽孢杆菌而破坏了肠道微生态平衡, 导致肠道内菌群比例失调, 并在肠道积累过量胞外产物, 有可能影响草鱼机体内源酶活性或者抑制内源酶的分泌^[6]。随着添加时间的延长, 酶的活性也开始呈下降趋势, 提示我们在生产中使用芽孢杆菌的时间不宜过长。

参 考 文 献

- [1] MORIARTY D J W. Microbial biotechnology: a key ingredient for sustainable aquaculture [J]. Infotech Int, 1996, 4: 29-33.
- [2] TAMCHIRO N, OKAMOTO Y, OKAMOTO S, et al. Bacily-socin, a novel phospholipid antibiotic produced by *Bacillus subtilis* 168 [J]. Antimicrob Agents Ch, 2002, 46: 315-320.
- [3] 冯雪, 吴志新, 陈孝焯, 等. 草鱼和银鲫肠道产消化酶细菌的研究[J]. 淡水渔业, 2008, 38(13): 51-57.
- [4] VERSCHUERE L, ROMBAUT G, SORGELOOS P, et al. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture[J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2000, 64(4): 655-671.
- [5] 刘波, 刘文斌, 王恬. 地衣芽孢杆菌对异育银鲫消化机能和生长的影响[J]. 南京农业大学学报, 2005, 28(4): 80-84.
- [6] 付天玺, 许国焕, 吴月嫦, 等. 凝结芽孢杆菌对奥尼罗非鱼消化酶活性、消化率及生长性能的影响[J]. 淡水渔业, 2008, 38(4): 30-35.
- [7] LIN H Z, GUO Z X, YANG Y Y, et al. Effect of dietary probiotics on apparent digestibility coefficients of nutrients of white shrimp *Litopenaeus vannamei* Boone [J]. Aqu Res, 2004, 35: 1441-1447.
- [8] 高欣, 盖力强, 李美英, 等. 芽孢杆菌对西伯利亚鲟幼鱼摄食生长和消化率的影响[J]. 河北师范大学学报, 2009, 33(3): 377-382.
- [9] SOGARRD D H, DENMARKT S. Microbials for feed beyond lactic acid bacteria [J]. Feed Inter, 1990, 11(4): 32-38.
- [10] ROY T, MONDAL S, RAY A K. Phytase-producing bacteria in the digestive tracts of some freshwater fish [J]. Aquac Res, 2009, 40: 344-353.
- [11] 余成瑶, 郑黎, 周毅. 肉鸡饲喂益生菌后小肠粘膜上皮细胞、肝细胞超微结构功能研究[J]. 四川农业大学学报, 1996, 14(1): 61-66.
- [12] MONGKOLS, KOH-EN Y. Histological alterations of intestinal villi in chickens fed dried *Bacillus subtilis* var. natto [J]. Comp Bioche and Physiol Mol Integr Physiol, 2002, 133(1): 95-104.
- [13] YU M C, LI Z J, LIN H Z, et al. Effects of dietary medicinal herbs and *Bacillus* on survival, growth, body composition, and digestive enzyme activity of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. Aquacult Int, 2009, 17: 377-384.
- [14] 华雪铭, 周洪琪, 张宇峰, 等. 饲料中添加壳聚糖和益生菌对暗纹东方鲟幼鱼生长及部分消化酶活性的影响[J]. 水生生物学报, 2005, 29(3): 299-305.

- [15] LIU C H, CHIU C S, HO P L, et al. Improvement in the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by a protease-producing probiotic, *Bacillus subtilis* E20, from natto[J]. J Appl Microbiol, 2009, 107: 1031-1041.
- [16] 刘小刚, 周洪琪, 华雪铭, 等. 微生态制剂对异育银鲫消化酶活性的影响[J]. 水产学报, 2002, 26(5): 448-452.

Dietary supplement of *Bacillus* spp. affected apparent digestibility, digestive enzyme activity of *Ctenopharyngodon idellus*

QU Yi WU Zhi-xin YANG Li PENG Xiao-yun
YUAN Juan BI Peng LIU Hong CHEN Xiao-xuan

College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract *Ctenopharyngodon idellus* were fed with basal diet supplemented with 0 (I), 1×10^8 (II), 3×10^8 (III), 5×10^8 cfu/g(IV) *Bacillus* spp. respectively for 30 days. Feces was collected to detect apparent digestibility of feed nutrients. The apparent digestibility of dry matter, crude protein and crude lipid in I group was significantly lower than the other treatment groups ($P < 0.05$). Quadratic curve equation was the best to fit the relationship between dosages of *Bacillus* spp. and apparent digestibility of nutrients. Protease activity of the mid-gut in II group and the hepatopancreas in II, III groups increased significantly compared with I group ($P < 0.05$). Amylase activity of the fore-gut and hind-gut in II group increased significantly compared with I group ($P < 0.05$). Lipase activity of the hind-gut in II, III group increased significantly compared with I group ($P < 0.05$). After feeding for 60 days, the similar results appeared. Two-way analysis of variance showed that protease activity of the mid-gut, hind-gut and the hepatopancreas, amylase activity of the fore-gut, mid-gut and hind-gut, lipase activity of the mid-gut and hind-gut were all significantly affected by the additional doseages of *Bacillus* spp. ($P < 0.05$). Protease activity and amylase activity of the hepatopancreas were significantly affected by feeding days ($P < 0.05$).

Key words *Ctenopharyngodon idellus*; *Bacillus* spp.; apparent digestibility; protease activity; amylase activity; lipase activity

(责任编辑:边书京)